

論文内容の要旨

報告番号		氏名	中西 真理
A sensitive and time-saving method for the diagnosis of drowning by multiplex PCR (Multiplex PCR を用いた簡単で感度の高い溺死診断法の開発)			

論文内容の要旨

現在、法医学では溺死の診断をするために様々な解剖学的所見に加えて、死体の各種臓器に入り込んだプランクトンを検出する懐機試験が広く行われている。しかし、この方法は強酸を用いて長時間加熱することから危険なうえ、酸での消化後、骨格の保持されている珪藻類しか検出することができないため、感度も十分ではない。そのため、最近、プランクトンや水生細菌の遺伝子を検出する方法が報告されているが、これらの方法はそれぞれの細菌種ごとに PCR を行うため、複数回 PCR を行う必要があり、煩雑でコストがかかる。また、プランクトンが存在しないため懐機試験では解析できない浴槽水での溺死については、上気道内常在細菌を検出する方法が報告されているが、検査試料として心臓血のみを使用しており、腐敗等により心臓血が採取できないことも多く、その際、診断ができない。そこで我々は、マルチプレックス PCR 法を用いて一度の PCR で複数種の細菌の遺伝子を検出できる簡便な方法を開発した。すなわち、溺水吸引診断の指標としての上気道内常在細菌 *Streptococcus salivarius* と *Streptococcus sanguinis*、溺死場所診断における、淡水の指標としての *Aeromonas hydrophila* および *Microcystis aeruginosa*、海水の指標としての *Vibrio harveyi* の各遺伝子を一挙に検出する系を開発した。本法を用いて 41 例の溺死事例について解析を行ったところ肺、肝臓、腎臓、気道、心臓血、胸水の各組織試料から上記細菌が検出され、解剖学的所見とよく一致しており、懐機試験のみならず、これまで報告されている遺伝子による検査より短時間で高感度な方法であることが明らかとなった。また、胸水における本法の検出率は 100%であったが、胸水から抽出した DNA を用いての溺死診断に関する報告はこれまでにないことから、本研究により、検査試料として胸水を用いることで溺死診断の精度向上に寄与できることが判明した。さらに、溺死診断の際、しばしば腐敗により解剖学的所見での判断が難しい場合に遭遇する。しかし本法では、腐敗した組織からも溺死の診断を行うことが可能であったことから、これまで溺死の判断が難しかった試料についても、溺死の診断が可能となる場合があると考え得る。